

SÉRIE A N° 120

N° D'ORDRE

142

THÈSES

PRÉSENTÉES

A la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Nestor SCHILLER

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

1^{re} THÈSE. — Recherches sur la fermentation élective.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 13 Juin 1924 devant la Commission d'examen.

MM. PORTIER, *Président.*

FERNBACH }
MOUTON } *Examineurs*

PICART, ÉDITEUR
59, Boulevard Saint-Michel
PARIS

1924



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Recherches sur la fermentation élective

SÉRIE A N° 966

N° D'ORDRE

THÈSES

PRÉSENTÉES

A la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Nestor SCHILLER

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

1^{re} THÈSE. — Recherches sur la fermentation élective.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Juin 1924 devant la Commission d'examen.

MM. PORTIER, *Président.*

FERNBACH {
MOUTON { *Examineurs*

PICART, ÉDITEUR
59, Boulevard Saint-Michel
PARIS

1924

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire .. P. APPELL.

Professeurs honorai-
res. P. PUISEUX.
VÉLAIN.
BOUSSINESQ.
PRUVOT.



Professeurs

EMILE PICARD	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
KOENIGS	Mécanique physique et expérimentale.
GOURSAT	Calcul différentiel et calcul intégral
HALLER	Chimie organique.
JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.).
JANET	Electrotechnique générale.
WALLERANT	Minéralogie.
ANDOYER	Astronomie.
PAINLEVÉ	Mécanique analytique et mécan. céleste
HAUG	Géologie.
H. LE CHATELIER....	Chimie générale.
Gabriel BERTRAND ..	Chimie biologique.
Mme P. CURIE.....	Physique générale et radioactivité.
CAULLERY	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ	Chimie appliquée.
G. URBAIN	Chimie minérale.
Emile BOREL	Calcul des probabilités et Physique mathém.
MARCHIS	Aviation.
Jean PERRIN	Chimie physique.
ABRAHAM	Physique.
CARTAN	Mécanique rationnelle.
LAPICQUE	Physiologie.
GENTIL	Géographie physique.
VESSIOT	Théorie des groupes et calcul des variations.
COTTON	Physique générale.
DRACH	Application de l'analyse à la géométrie.
C. FABRY	Physique.
Charles PÉREZ	Zoologie.
LÉON BERTRAND	Géologie appliquée et géologie régionale.
LESPIEAU	Théories chimiques.
LEDUC	Physique théorique et physique céleste.
RABAUD	Biologie expérimentale.
PORTIER	Physiologie comparée.
DANGEARD	Botanique.
MONTEL	Mathématiques générales.
MAURAIN	Physique du globe.
WINTREBERT	Anatomie et histologie comparées.
DUBOSQ	Biologie maritime.
HÉROUARD	Zoologie.
RÉMY PERRIER	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
SAGNAC	Physique théorique et physique céleste.
BLAISE	Chimie organique.
PÉCHARD	Chimie (Enseignement P. C. N.).
AUGER	Chimie analytique.
M. GUICHARD	Chimie minérale.
GUILLET	Physique.
JULIA	Mathématiques générales.
MAUGUIN	Minéralogie.
BLARINGHEM	Botanique.
MICHEL-LÉVY	Pétrographie.
N.....	Géométrie supérieure.

Secrétaire Daniel YOMBECK

A M. LE DOCTEUR E. ROUX

Membre de l'Institut.

Directeur de l'Institut Pasteur.

A M. A. FERNBACH

Professeur à l'Institut Pasteur.

Maître de Conférences à la Faculté des Sciences.

Hommages respectueux.

INTRODUCTION

Les premières recherches sur la fermentation élective sont dues à Soubeiran. Dès 1843, Soubeiran avait étudié la fermentation alcoolique du sucre interverti, dont la composition était encore inconnue. De ses recherches il n'y a rien à conclure, sinon que le pouvoir rotatoire, qui diminue d'intensité à mesure que la fermentation s'accomplit, reste gauche pendant toute la durée de celle-ci.

Quelques années plus tard, Dubrunfaut reprit ces expériences, il en tira la conclusion que le sucre interverti renferme un sucre neutre et un sucre doué d'un pouvoir rotatoire. Le sucre neutre seul fermenterait dans les premiers temps de la fermentation, tant que le pouvoir rotatoire ne change pas. Il fermenterait ensuite un mélange de sucre neutre et de sucre levogyre, et en dernier lieu du sucre gauche.

Le sucre complètement interverti ne renferme pas de principe défini que l'on puisse appeler un sucre neutre, et on ne peut retenir des observations de Dubrunfaut que ce fait, que la solution de sucre interverti éprouve durant la fermentation, d'une part, une diminution

dans le poids total des sucres qu'elle renferme et, d'autre part, des changements dans le rapport existant entre les proportions respectives de ceux-ci.

Cette seconde proposition paraît indiquer que la levure possède la propriété de choisir parmi les divers sucres fermentescibles. De là, l'expression fermentation élective créée par Dubrunfaut, expression qui conserve toute sa valeur dans l'état actuel de la science.

Nos connaissances sur la fermentation élective peuvent être rapprochées d'un certain nombre d'observations relatives à l'assimilation des matières alimentaires. Ces observations montrent que les tissus des animaux et des végétaux se conduisent en présence des matières nutritives absorbées d'une manière analogue à celle dont se comporte la levure de bière en présence des matières sucrées fermentescibles.

Claude Bernard avait constaté que les différents sucres injectés dans l'économie y sont détruits plus ou moins facilement, et il les avait rangés suivant leur ordre de destructibilité par les tissus.

Duclaux a montré que, si l'on offre à l'*Aspergillus niger* un mélange d'acides acétique, lactique, tartrique et butyrique, le champignon consomme d'abord l'acide acétique, commençant par l'aliment qui lui convient le mieux et ne passant à l'autre que lorsque le premier devient rare ou fait complètement défaut.

L'étude de la fermentation élective a été reprise plus tard par Kjeldahl et par Bourquelot.

Bourquelot a étudié la fermentation du sucre interverti, celle d'un mélange à parties égales de glucose

et de lévulose et celle d'un mélange de maltose et de lévulose. L'analyse du milieu sucré a été faite à divers moments de la fermentation au moyen du polarimètre et de la liqueur de Fehling, les deux sucres contenus dans le milieu ont été ainsi titrés individuellement.

Il résulte de ces expériences que le glucose est consommé à l'origine plus vite que le lévulose, mais cela ne dure pas ; au fur et à mesure que le sucre préféré est consommé, il devient plus rare et la consommation de l'autre augmente. La différence passe par une valeur maximum, et diminue ensuite, jusqu'à devenir nulle, si l'on prolonge suffisamment l'expérience.

Des levures découvertes dans des sucres commerciaux avariés et étudiées en 1890 par MM. Gayon et Dubourg, présentent une interversion de propriétés et des variations plus grandes. Ces levures font fermenter le lévulose de préférence au glucose, et le sucre qu'elles laissent comme résidu dans une fermentation inachevée de sucre interverti possède un pouvoir rotatoire droit.

LA REACTION DU MILIEU

Pasteur, à l'origine de ses recherches, a montré que les milieux acides conviennent au développement des moisissures et des levures, tandis que les bactéries sont incapables de se multiplier dans ces milieux.

La réaction du milieu, comme dit M. Fernbach, joue donc un rôle capital dans la détermination de la nature des microorganismes qui peuvent envahir un liquide organique. Il ne suffit pas que des germes d'une espèce soient présents dans un milieu, et que cette espèce rencontre dans ce milieu les substances minérales et organiques nécessaires à son développement, il faut encore qu'elle soit placée dans des conditions de réaction favorables, notion qu'on exprime actuellement avec plus de précision en disant qu'il faut une concentration déterminée en ions hydrogène. Mais si l'on est arrivé, à une époque récente, à formuler cette idée d'une manière de plus en plus concrète, c'est à Pasteur que nous le devons.

La concentration en ions hydrogène présente un intérêt chaque fois qu'un phénomène se trouve sous la dépendance de l'acidité ou de l'alcalinité du milieu.

De nombreux travaux nous prouvent l'importance de la concentration des ions hydrogène. Les industries des matières alimentaires nous offrent des exemples de cas dans lesquels les phénomènes qui entrent en jeu

dépendent essentiellement de la réaction du milieu. Parmi ces exemples se placent en première ligne les actions diastasiques, qui jouent un rôle capital dans les industries de fermentation.

M. Fernbach a montré que l'activité de l'amylase est à son maximum pour une acidité (ou, comme nous pouvons dire actuellement, pour une concentration en ions hydrogène) qui correspond à peu près à la neutralité au méthylorange. D'après MM. Fernbach et Hubert, la neutralité ou méthylorange, c'est-à-dire $P_H=4.4$, représente aussi l'optimum pour l'action de la diastase protéolytique du malt.

Dans la fabrication de la bière, les phénomènes qui se produisent au cours de l'ébullition en chaudière avec le houblon dépendent également de l'acidité. La séparation complète pendant l'ébullition des corps azotés coagulables est essentielle pour la stabilité de la bière, et les travaux de Sørensen et de Michaelis nous ont appris que cette coagulation dépend des propriétés physiques des protéines et de la réaction du milieu où la coagulation a lieu.

C'est la fermentation qui communique à la bière l'acidité qui convient le mieux pour sa stabilité et sa saveur. Cette acidité finale dépend également de la composition du moût, notamment de sa teneur en hydrates de carbone et en corps azotés. Comme la stabilité des colloïdes de la bière est en relation étroite avec la présence des ions hydrogène, on a été conduit dans la fabrication des bières d'exportation à acidifier artificiellement les trempes et les moûts.

Un exemple instructif de l'importance de la concentration en ions hydrogène nous est fourni par le travail de T. Paul. Cet auteur a montré en effet que la saveur acide du vin, propriété organoleptique importante, dépend de la concentration en ions hydrogène, tandis que l'acidité déterminée par titration ne joue qu'un rôle secondaire.

La fermentation étant, comme on l'a vu, en liaison étroite avec la réaction du milieu, le problème s'est posé de savoir si des changements apportés dans la réaction du milieu pourraient troubler la marche normale de la consommation des sucres offerts comme aliment à la levure.

L'étude de cette question est exposée dans ce travail ; les recherches antérieures faites à une époque, où la notion de la réaction du milieu était inconnue se bornent à l'étude d'une fermentation normale, tout en tenant compte de l'influence des agents physiques et des corps tels que l'alcool, l'acide succinique, etc.

Ce travail a été fait dans le Laboratoire des Fermentations de l'Institut Pasteur, sous la direction de M. le Professeur Fernbach.

Je prie M. Fernbach, de bien vouloir trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour le bienveillant accueil qu'il m'a fait dans son laboratoire à l'Institut Pasteur et pour les précieux conseils qu'il m'a prodigués sans cesse et grâce auxquels ces recherches ont pu être menées à bien.

Je tiens à remercier aussi M. Schoen pour le bienveillant intérêt qu'il m'a toujours témoigné pendant mon séjour au laboratoire et pour toutes les indications d'ordre technique qu'il m'a données au cours de ce travail.

FERMENTATION ELECTIVE

PREMIÈRE PARTIE

Milieux de culture.

Le milieu de culture employé est l'eau de touraillons; les levures se développent normalement dans ce milieu et font disparaître tout le sucre introduit.

Pour préparer le milieu, on prend 25 gr. de radicelles de malt que l'on fait bouillir pendant 10 minutes dans 1 litre d'eau. On coagule les matières protéiques au moyen du blanc d'œuf à l'autoclave à 115° ; après coagulation, on filtre à froid. Les radicelles de malt étant pauvres en phosphates il convient d'ajouter 0 gr. 7 0/0 de phosphate d'ammoniaque. L'aliment sucré offert à la levure est le saccharose (10 0/0). Le saccharose est préalablement interverti par l'acide chlorhydrique ; la levure se trouve donc au moment de l'ensemencement en présence d'un mélange équimoléculaire de glucose et de lévulose.

Pour l'étude de la fermentation élective cinq milieux différents ont été employés : A, B, C, D, E.

L'eau de touraillons préparée de la façon indiquée possède un $P_H = 6,2$, c'est le milieu B. Le milieu A à $P_H = 5,1$ est le milieu le plus acide ; l'acidité a été obtenue en acidifiant le milieu. Deux séries d'expériences ont été faites, une série dans laquelle l'aug-

mentation de l'acidité a été obtenue en utilisant un acide organique : l'acide tartrique, et une seconde série dans laquelle l'acide tartrique a été remplacé par un acide minéral, l'acide chlorhydrique, acide qui est le plus dissociable de tous les acides minéraux.

Le milieu C représente le milieu neutre à $P_H = 7$; D ($P_H = 7,5$) et E ($P_H = 8,2$) sont les milieux alcalins.

Les cultures ont été faites dans des ballons, préalablement traités à l'autoclave, d'abord par la soude, et ensuite par l'acide chlorhydrique, dans le but d'éviter que des éléments du verre ne changent la nature du milieu. Dans chaque série d'expériences, les différents milieux ont étéensemencés avec la même levure, en même temps et l'on a introduit, autant que possible, la même quantité de semence.

L'analyse a été faite sur des échantillons prélevés matin et soir. Les échantillons du matin étaient dosés le même jour ; dans les échantillons du soir l'on arrêtait la fermentation par le chauffage et l'on procédait le jour suivant à l'analyse.

Les recherches ont porté sur des levures de différentes races, fournies par le Laboratoire des Fermentations de l'Institut Pasteur. Pour obtenir la semence nécessaire, les levures étaient d'abord rajeunies dans l'eau de touraillons sucrée, et ensuite cultivées sur de l'eau de touraillons gélosée dans des boîtes de Roux. Après un séjour de 36 heures à l'étuve on obtenait des cultures abondantes. La semence recueillie aseptiquement dans un tube à essai stérile servait pour l'ensemencement des cinq milieux différents.

METHODES DE DOSAGE

Dans les recherches antérieures sur la fermentation élective, les auteurs ont procédé à l'analyse de la liqueur, à divers moments, en se servant du polarimètre et de la liqueur de Fehling, de cette façon ils pouvaient titrer individuellement les deux sucres et savoir lequel est consommé le plus vite.

Dans ce travail, on a employé deux méthodes différentes de celles utilisées dans les travaux précédents. Le sucre réducteur total du milieu en fermentation a été dosé par la méthode de Bertrand, le glucose par la méthode de dosage par l'iode ; la différence entre le sucre réducteur total et le glucose correspond au lévulose présent.

Dans la méthode de Bertrand, le sucre réduit la liqueur de Fehling ; l'oxydule de cuivre qui se forme est recueilli par filtration sur l'amianté et dissous dans un excès de sulfate ferrique. L'oxydule de cuivre réduit en partie le sulfaté ferrique et le transforme en sulfate ferreux. Le sulfate ferreux est dosé à l'aide d'une solution titrée de permanganate de potasse et le volume de permanganate employé permet de calculer le poids de sucre réducteur, présent dans la solution.

La méthode de dosage des sucres par l'iode a été perfectionnée récemment. Willstätter et Schudel d'une part, Colin et Liévin d'autre part ont établi des métho-

des de dosage basées sur l'oxydation des sucres par l'iode en solution alcaline et leur transformation en acides monobasiques correspondants. Ces méthodes ne sont pas précises ; celle adoptée par Mlle Judd fournit de bons résultats, comme l'ont pu confirmer Baker et Hulton.

Le mode opératoire est le suivant. On ajoute à 10 cc. de solution à analyser 20 cc. d'une solution décimale d'iode et 30 cc. de soude décimale. Le mélange est abandonné à lui-même, pendant cinq minutes, à la température du laboratoire ; on acidifie avec de l'acide sulfurique normal et l'on titre l'excès d'iode avec une solution N/20 d'hyposulfite de soude en présence d'amidon. Il importe que les solutions qui réagissent soient mélangées dans l'ordre suivant : sucre, iode et alcali. Lorsqu'on mélange d'abord l'iode et l'alcali, on obtient des valeurs plus faibles.

Les auteurs qui ont créé cette méthode ont travaillé sur des sucres purs. Il faut tenir compte cependant du fait que les matières azotées, telles que les matières protéiques, sont également oxydées par l'iode. Il importe donc, lorsque dans l'emploi de cette méthode on se trouve en présence de matières fixant l'iode, d'éliminer les matières en question qui pourraient être la cause d'erreurs dans le dosage.

L'infusion de touraillons est, comme il a été dit précédemment, le milieu de culture employé dans les recherches sur la fermentation élective. L'expérience montre que les matières azotées, contenues dans l'eau de touraillons, fixent l'iode, d'où la nécessité, avant

d'entreprendre les recherches, de trouver un procédé permettant d'éliminer ces matières.

La défécation par le sous-acétate de plomb donne des résultats à peu près satisfaisants, à la condition d'employer un très grand excès de sulfate de soude, indispensable pour éliminer toute trace de plomb.

Des expériences ont été faites sur de l'eau de touraillons, contenant un poids connu de saccharose pur, préalablement interverti. En employant le sous-acétate de plomb comme déféquant, on trouve que le volume d'iode fixé est supérieur à la quantité nécessaire pour oxyder le glucose présent dans la solution, il est d'autant plus rapproché du chiffre exact que la quantité de sulfate de soude augmente. Il se pourrait que l'iode entrât en combinaison avec les traces de sous-acétate restant, inconvénient qui introduit des erreurs dans le dosage.

A 50 cc. d'eau de touraillons, contenant un poids de sucre interverti connu, on ajoute du sous-acétate de plomb jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de précipitation, on amène au volume de 100 cc. au moyen d'une solution saturée de sulfate de soude, on filtre. Le liquide filtré est soumis à l'analyse, on trouve un nombre de cc. d'iode supérieur à la quantité théorique. En répétant l'expérience, mais en amenant le liquide à 200 cc. au moyen du sulfate de soude, on constate que le volume d'iode fixé est inférieur à celui trouvé dans le cas précédent, volume qui se rapproche de la quantité théorique sans être cependant rigoureusement exact.

De ces expériences, il résulte que, même dans le cas

où l'on emploie un très grand excès de sulfate de soude, le nombre de cc. d'iode trouvé est toujours supérieur au nombre théorique, par conséquent, la défécation par le sous-acétate de plomb, dans ce cas particulier, doit être abandonnée.

Les recherches entreprises sur la défécation par le noir animal lavé ont conduit à de bons résultats.

Cette méthode de défécation présente des avantages réels par son maniement simple et sa rapidité, surtout dans le cas où l'on est obligé de faire des analyses en série. On laisse le liquide à analyser, et amené à un volume connu, en contact avec le noir animal, dans un verre à pied, pendant cinq minutes en agitant de temps en temps. On filtre, le liquide filtré est incolore et limpide, et exempt, de toutes matières autres que le sucre, capables de fixer l'iode.

La méthode de défécation par le noir animal a été vérifiée en soumettant à l'analyse deux solutions sucrées différentes, contenant dans le même volume un poids connu de saccharose pur, préalablement interverti. Dans le premier cas on a dosé le sucre contenu dans une infusion de touraillons, après défécation, suivant la méthode indiquée, dans le deuxième cas on a remplacé l'infusion de touraillons par l'eau distillée. Les résultats obtenus sont les suivants :

EXPERIENCE I

	Sucre introd.	Sucre trouvé
Infusions de touraillons.....	1 g. 224 0/0	1 g. 227 0/0
Eau distillée	1 g. 224 0/0	1 g. 222 0/0

EXPERIENCE II

	Sucre introd.	Sucre trouvé
Infusions de touraillons.....	0 g. 953 0/0	0 g. 958 0/0
Eau distillée	0 g. 953 0/0	0 g. 955 0/0

La fixation de l'iode par les matières azotées de l'infusion de touraillons peut être facilement démontrée en faisant agir l'iode dans les conditions mêmes de la méthode de dosage sur une infusion de touraillons exempte de sucre. Par analogie avec les expériences précédentes la quantité d'iode fixée est exprimée en glucose (1 cc. d'une solution N/10 d'iode correspond à 0 gr. 009 de glucose). Parallèlement on a appliqué la méthode de dosage à la même infusion de touraillons, mais préalablement déféquée par le noir animal.

EXPERIENCE III

	Sucre introd.	Sucre trouvé
Infusion de touraillons non-déf.	0	0 g. 081 0/0
— — — déféquée.	0	0 0/0

La quantité de noir animal employée pour la défécation doit être suffisante pour éliminer toutes les matière azotées fixant l'iode ; elle doit cependant rester dans certaines limites afin d'éviter l'entraînement d'une partie du sucre par le noir animal. En dosant le sucre contenu dans une infusion de touraillons après défécation par des quantités croissante de noir animal on trouve les chiffres suivants :

EXPERIENCE IV

Noir animal pour o/o de liquide	Sucre introd.	Sucre trouvé
6 0/0	1 g. 015	1 g. 027
8 0/0	1 g. 015	1 g. 018
10 0/0	1 g. 015	1 g. 016
12 0/0	1 g. 015	1 g. 005
14 0/0	1 g. 015	0 g. 989
18 0/0	1 g. 015	0 g. 981

L'expérience montre que c'est avec 8-10 o/o de noir animal qu'on obtient les chiffres les plus exacts ; au-dessous la quantité de noir est insuffisante, au-dessus les chiffres trouvés sont inférieurs, étant donné qu'une faible partie du sucre a été entraînée par le noir animal.

DEUXIEME PARTIE

Réaction du milieu et fermentation élective.

PREMIER CHAPITRE

La deuxième partie de ce travail comporte deux chapitres, le premier dans lequel l'acidification du milieu A, représentant le milieu le plus acide, a été obtenue par l'acide chlorhydrique, dans le deuxième l'acide chlorhydrique est remplacé par un acide organique, l'acide tartrique. Dans les deux cas, le saccharose offert comme aliment à la levure, a été préalablement interverti, le milieu de culture contient donc un mélange équimoléculaire de glucose et de lévulose.

L'étude de l'influence de la réaction du milieu sur la fermentation élective a porté sur des levures variées ; des levures de bière, de vin, de distillerie ont été étudiées.

EXPERIENCE I

Levure de Sauternes.

Dubourg, dans ses recherches sur les levures, a rencontré dans les lies de vin de Sauternes des levures,

qui ne secrètent pas de sucrase, et qui à l'encontre de la plupart des autres levures, lorsqu'elles s'attaquent au sucre interverti, font disparaître le lévulose plus vite que le glucose. Il ne semble pas douteux que certains vins de Sauternes ne doivent, pour une part, leur saveur douce particulière au glucose qui s'y trouve encore, une fois que la fermentation est achevée. Ils la doivent aussi, sans doute, pour une part encore plus importante, à la présence d'une proportion anormalement élevée de glycérine, fait dont la connaissance est due à Laborde.

La levure de Sauternes a été soumise à l'expérience dans les cinq milieux différents. Les chiffres du tableau suivant montrent la marche de la disparition du sucre dans les différentes conditions de la fermentation. Le tableau donne, dans la première colonne, la nature du milieu, dans la seconde le sucre introduit, et dans les colonnes suivantes le sucre consommé à divers moments de la fermentation.

TABLEAU I

Levure de Sauternes.

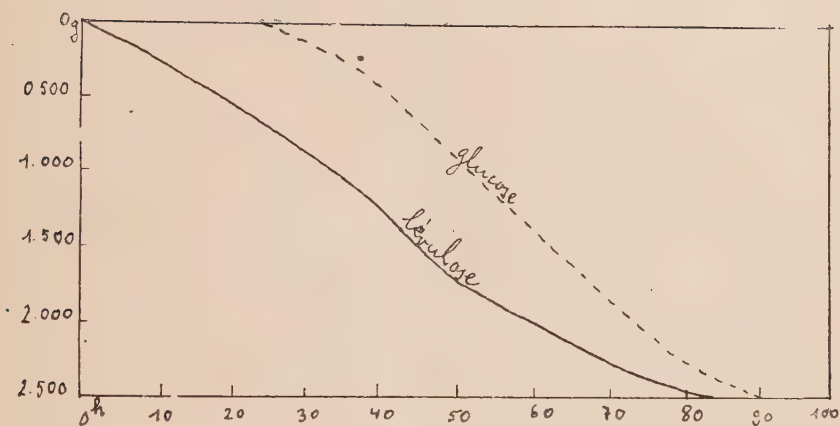
Milieu	Sucre introduit		Sucre consommé							
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72	86
A	2.631	Gluc.	0	6	36	348	937	1.468	2.119	2.489
	2.631	Lév.	0	430	742	1.170	1.732	2.112	2.418	2.619
B	2.631	Gluc.	0	7	71	459	1.034	1.549	2.169	2.525
	2.631	Lév.	0	441	728	1.183	1.838	2.133	2.485	2.631
C	2.631	Gluc.	0	11	116	563	1.115	1.729	2.281	2.582
	2.631	Lév.	0	464	735	1.278	1.939	2.287	2.544	2.631
D	2.631	Gluc.	0	19	138	631	1.217	1.878	2.344	2.577
	2.631	Lév.	0	736	1.140	1.719	2.601	2.631	2.631	2.631
E	2.631	Gluc.	0	10	128	596	1.142	1.818	2.313	2.630
	2.631	Lév.	0	572	979	1.480	2.049	2.507	2.631	2.631

L'examen des chiffres portés sur le tableau précédent montre que la fermentation élective d'un mélange de glucose et de lévulose ne doit pas être entendue dans le sens de destruction successive, mais bien dans celui de destruction simultanée et à poids inégaux de chacun des sucres.

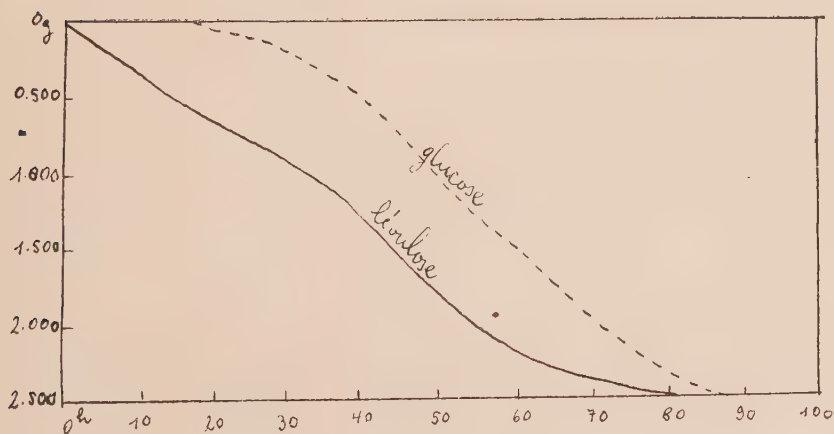
En consultant les chiffres on voit nettement qu'à l'origine la disparition du glucose est insignifiante par rapport à celle du lévulose. Dès le début de la fermentation le poids du lévulose consommé est supérieur à 20 o/o du poids initial, dans le cas du milieu D et E,

inférieur dans les milieux A, B, C. Pendant les 48 premières heures de la fermentation la levure persiste dans cette préférence ; dans deux essais successifs le poids du lévulose consommé est toujours supérieur au poids du glucose, disparu dans le même temps. Après 48 heures de fermentation, le sucre préféré devenant plus rare, la consommation du glucose augmente ; la différence entre les deux sucres passe par une valeur maxima, et diminue ensuite, jusqu'à devenir nulle, si l'on prolonge suffisamment l'expérience.

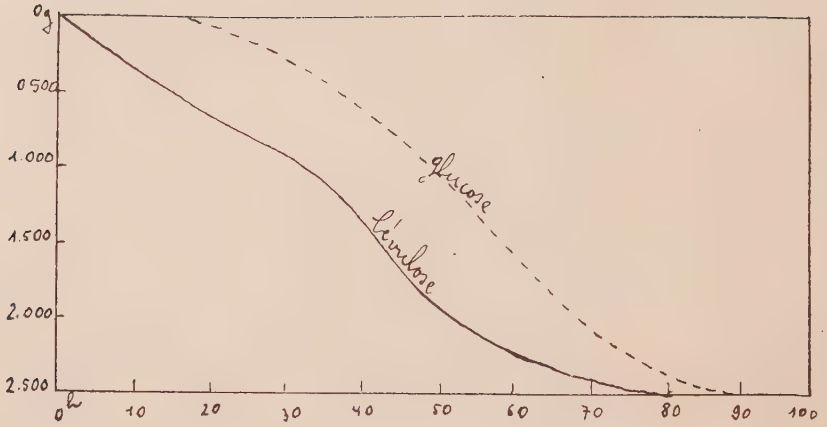
La disparition du glucose et du lévulose est représentée dans les graphiques par les deux courbes, on y voit les deux courbes se séparer dès le point de départ, s'éloigner jusqu'à une valeur maxima, pour aboutir toutes deux à l'ordonnée qui correspond à 5 gr. de sucre consommé.



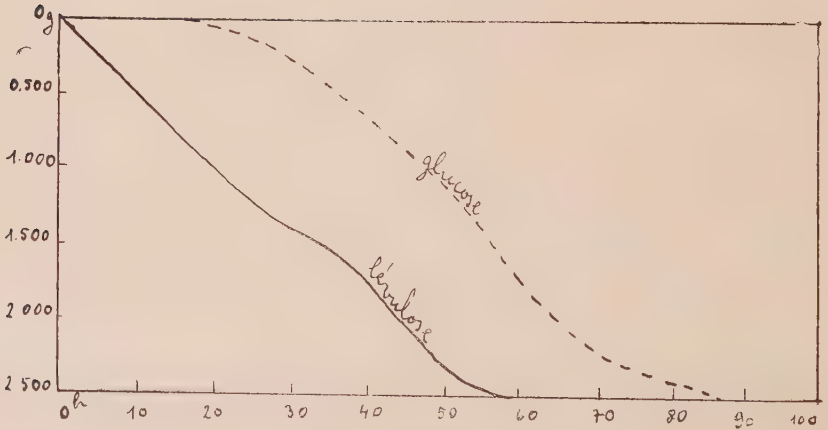
Milieu A



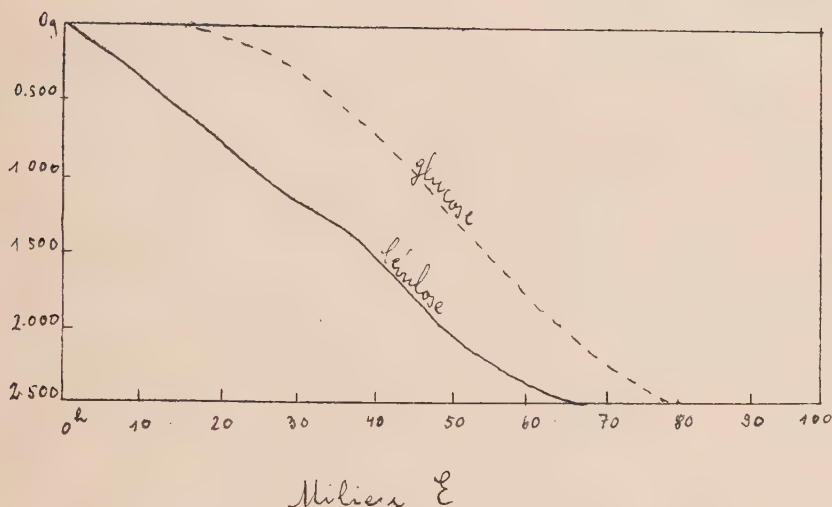
Milieu B



Milieu C



Milieu CD



Le fait caractéristique de cette expérience, est que la réaction du milieu n'apporte aucun changement dans la fermentation élective de la levure de Sauternes. A part une fermentation plus active, dans les milieux D et E, on remarque que dans les cinq milieux différents, la consommation du sucre s'accomplit de la même manière. Cette propriété de la levure de Sauternes, propriété qu'elle présente d'une manière constante est d'autant plus remarquable que les autres levures, comme les expériences suivantes le prouveront, sont sensibles à la réaction du milieu. On doit conclure que, quelles que soient les conditions de la fermentation, la levure de Sauternes persiste dans son mode de fermentation élective ; c'est chez elle un caractère fixé.

Il est intéressant, de citer ici, le cas d'une levure

de Sauternes, étudiée par Dubourg, chez laquelle on retrouve la constance de la levure dans ses propriétés. Chez cette levure le phénomène de fermentation élective est plus marqué que chez toutes les autres, car elle ne s'attaque au glucose que lorsqu'elle a fait disparaître intégralement le lévulose. En outre elle présente d'une manière absolument constante, la propriété de produire, dans les milieux sucrés non sulfités, des quantités de glycérine beaucoup plus considérables que les autres levures, caractère qu'elle conserve malgré les nombreux passages qu'on lui a fait subir depuis plus de quinze ans dans les milieux sucrés exempts d'acide sulfureux. Etant données les connaissances que l'on possède actuellement on peut supposer que la faculté de produire de grandes quantités de glycérine a été imprimée à cette levure, à l'origine, par la présence d'acide sulfureux dans le moût de raisin d'où on l'a primitivement isolée.

EXPERIENCE II

Levure Pombé.

Le *Schizosaccharomyces Pombé* a été découvert par Saare dans la bière de millet d'Afrique et décrit par Lindner en 1893. Sa forme est cylindrique, arrondie aux deux extrémités, et de diamètre variable. C'est une levure qui ne bourgeonne pas, qui s'allonge et se partage en deux par une cloison médiane, au niveau de laquelle se fait la séparation.

Le contenu de la cellule est légèrement granuleux, avec des agglomérations de corpuscules, qui deviennent plus abondantes et plus épaisses immédiatement avant que le cloisonnement ne se fasse. C'est alors dans l'épaisseur de ces amas qu'apparaît la membrane nouvelle.

C'est une levure à atténuation forte. Elle a poussé à 84 o/o l'atténuation apparente d'une bière, qu'une levure de Froberg avait portée seulement à 70 o/o. La bière avait un arrière goût peu agréable. La fermentation est très active, et présente tous les caractères d'une fermentation basse. C'est à 30-35° qu'elle marche le mieux, elle prend alors un peu les caractères d'une fermentation haute. Cette levure convient bien pour des moûts concentrés, attendu qu'elle est très active et supporte sans faiblir des titres alcooliques très élevés. Elle fait fermenter les maltose, saccharose, glucose, lévulose, raffinose ; elle serait en outre capable de faire fermenter les dextrines.

La fermentation élective a été étudiée sur la levure Pombé dans des conditions identiques à celles de la levure de Sauternes. Les cinq milieux différents ont étéensemencés avec une culture de levure pure. Les nombres ci-dessous donnent le résultat d'une expérience ; l'analyse étant faite, comme dans le cas précédent, à divers moments de la fermentation.

TABLEAU II

Levure Pombé.

Milieu	Sucre introduit			Sucre consommé						
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72	86
A										
	2.631	Gluc.	0	72	799	1.551	1.821	2.024	2.204	2.463
	2.631	Lév.	0	146	823	1.110	1.616	1.751	2.031	2.315
B										
	2.631	Gluc.	0	34	589	921	1.580	1.844	2.159	2.451
	2.631	Lév.	0	118	613	860	1.422	1.513	1.988	2.319
C										
	2.631	Gluc.	0	86	831	1.336	1.664	2.091	2.316	2.528
	2.631	Lév.	0	252	871	1.096	1.403	1.946	2.124	2.370
D										
	2.631	Gluc.	0	201	714	1.416	1.763	2.159	2.381	2.570
	2.631	Lév.	0	711	1.086	1.598	1.892	2.283	2.456	2.631
E										
	2.631	Gluc.	0	121	774	1.056	1.731	1.979	2.181	2.459
	2.631	Lév.	0	381	998	1.396	1.806	2.158	2.326	2.538

Le tableau dans lequel sont consignés les résultats de l'expérience faite avec la levure Pombé montre que dans aucun des cinq milieux différents, il n'y a fermentation successive de chacun des deux sucres. La

levure détruit simultanément, mais en proportions inégales le glucose et le lévulose. Comme l'expérience le prouve, cette destruction ne s'accomplit pas de la même manière dans les différents milieux.

En examinant la marche des chiffres, un fait s'impose, c'est que la fermentation est dérégulée, elle présente une allure différente, suivant la nature du milieu. Au début, dans tous les milieux, c'est la lévulose qui disparaît plus vite que le glucose, mais cela ne dure pas. La préférence de la levure pour le glucose s'accroît dans les milieux A, B, C : après 24 heures la destruction du glucose s'accomplit plus vite et reste constante jusqu'au bout de la fermentation. Dans les milieux D et E, pendant toute la journée de la fermentation, c'est le lévulose qui est consommé de préférence.

Donc, contrairement à ce qui se passe chez la levure de Sauternes, qui, elle, persiste dans ses propriétés caractéristiques, manifestant ainsi son indépendance vis-à-vis de la réaction du milieu, cette réaction influe nettement sur la levure Pombé. On peut tirer la conclusion que la levure de Pombé après avoir fait fermenter au début le lévulose plus vite dans tous les milieux, s'attaque après 24 heures de fermentation de préférence, au glucose, dans les milieux A, B, C, tout en continuant à consommer le lévulose plus vite dans les milieux D et E.

EXPERIENCE III

Levure Logos.

Van Laer et Denamur ont isolé parmi les levures de la brasserie Logos à Rio-de-Janeiro, une levure à laquelle ils ont donné le nom de levure Logos. Son origine est inconnue, mais elle provient probablement d'une fermentation spontanée du jus de canne à sucre.

Pendant la fermentation, les cellules se tiennent agglomérées en paquets, quelquefois tellement volumineux qu'ils peuvent devenir visibles à l'œil nu. Elle est un peu visqueuse, se colle facilement au fond et sur les parois du vase et, comme elle ne monte pas à la surface du liquide en fermentation, elle possède les caractères extérieurs d'une levure basse, mais elle peut rester active aux hautes températures du climat brésilien, et la bière qu'elle fournit présente les caractères de la bière haute.

Elle est remarquable par sa puissance d'atténuation, en revanche elle est peu active et produit des fermentations plus lentes que les autres levures industrielles.

TABLEAU III

Levure Logos.

Milieu			Sucre introduit			Sucre consommé				
		Heures.	0	14	24	38	48	62	72	86
A	2.631	Gluc.	0	121	381	1.031	1.416	2.181	2.249	2.434
	2.631	Lév.	0	331	481	961	1.271	1.921	2.119	2.363
B	2.631	Gluc.	0	131	361	911	1.281	1.821	2.091	2.415
	2.631	Lév.	0	531	656	861	1.131	1.616	1.916	2.329
C	2.631	Gluc.	0	134	471	1.636	1.771	2.384	2.474	2.596
	2.631	Lév.	0	528	621	1.276	1.558	2.173	2.252	2.459
D	2.631	Gluc.	0	32	89	1.056	1.316	1.946	2.104	2.327
	2.631	Lév.	0	600	753	1.256	1.461	2.016	2.159	2.425
E	2.631	Gluc.	0	0	231	1.014	1.291	1.979	2.082	2.371
	2.631	Lév.	0	562	1.021	1.268	1.441	2.084	2.183	2.437

La consommation du glucose et du lévulose, par la levure Logos, s'accomplit de différentes manières, selon la nature du milieu. On voit, comme dans le cas de la levure Pombé, intervenir la réaction du milieu.

Au début, le lévulose est consommé de préférence dans tous les milieux. Cette préférence dont le lévulose est l'objet jusqu'à la fin fermentation dans les milieux D et E persiste. Dans les milieux A, B, C par contre la consommation du glucose l'emporte sur celle du lévulose, après 24 heures de fermentation.

Il est frappant de constater avec quelle vitesse la consommation du lévulose l'emporte sur celle du glucose au début de la fermentation dans les milieux D et E.

Dans le milieu E, on retrouve, après 14 heures de fermentation, tout le glucose, alors que 20 o/o de lévulose ont disparu ; après 24 heures de fermentation la levure a consommé 1 gr. 021 de lévulose et seulement 0 gr. 231 de glucose. La différence, entre la glucose et le lévulose, consommés, diminue lorsque l'acidité augmente : dans le milieu A, la levure a fait disparaître, après 24 heures de fermentation, 0 gr. 481 de lévulose et 0 gr. 381 de glucose. La différence est donc de 100 milligr., elle est de 790 milligr. dans le milieu E, au même stade de la fermentation. Pendant la fermentation, la différence entre le glucose et le lévulose consommés diminue, ce fait est général pour tous les milieux. Les deux courbes se rapprochent, la levure continuant à faire fermenter le glucose plus vite dans les milieux A, B, C, tandis que le lévulose disparaît avec une rapidité plus grande dans les milieux D et E.

EXPERIENCES IV ET V

Levures Saaz et Froberg.

On considère comme appartenant au type conventionnel Saaz toutes les levures industrielles donnant une atténuation faible, et au type Froberg toutes celles qui donnent une atténuation moyenne.

Les levures de Saaz et Froberg jouent un rôle considérable dans l'industrie des fermentations alcooliques, elles ont été isolées par Lindner, l'une d'une brasserie de Saaz, en Bohême, l'autre de la brasserie Froberg à Grimma. Ce sont des levures basses. Un grand nombre de levures industrielles (brasserie et distillerie) voisines de ces deux levures ont été décrites. Les unes produisent des fermentations basses, les autres des fermentations hautes.

TABLEAU IV

Levure Saaz.

Milieu	Sucre introduit		Sucre consommé						
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	596	1.479	2.029	2.167	2.375	2.501
	2.631	Lév.	0	706	1.415	1.772	2.020	2.260	2.484
B	2.631	Gluc.	0	476	1.275	1.746	2.041	2.291	2.483
	2.631	Lév.	0	751	1.354	1.542	1.930	2.196	2.444
C	2.631	Gluc.	0	146	920	1.534	1.840	2.149	2.304
	2.631	Lév.	0	616	1.328	1.568	1.776	2.075	2.234
D	2.631	Gluc.	0	201	1.017	1.686	1.943	2.221	2.413
	2.631	Lév.	0	941	1.529	1.801	2.002	2.270	2.379
E	2.631	Gluc.	0	21	969	1.526	1.909	2.168	2.360
	2.631	Lév.	0	1.191	1.618	1.721	1.983	2.243	2.405

La réaction du milieu intervient dans la fermentation du glucose et du lévulose par la levure de Saaz de la même manière que dans le cas des levures Pombé et Logos.

La levure consomme, au début, de préférence le lévulose et cela dans tous les milieux, préférence qu'elle conserve jusqu'à la fin de la fermentation dans les milieux D et E ; dans les milieux A, B, C c'est inversement le glucose qui disparaît plus vite après un certain temps.

La préférence de la levure Saaz pour le lévulose est plus accentuée que dans le cas des autres levures examinées. Dans le milieu E la levure a consommé après 14 heures de fermentation presque la moitié du lévulose présent, alors qu'elle n'a fait disparaître que des traces de glucose. L'examen des chiffres du milieu C nous montre, à l'encontre des levures Logos et Pombé, qu'après 38 heures de fermentation c'est toujours le lévulose qui disparaît plus vite ; après 48 heures c'est le phénomène inverse qui se produit, la levure s'attaquant de préférence au glucose, la fermentation prend la même allure, que dans le cas des autres levures.

TABLEAU V

Levure Frohberg.

	Milieu Sucre introduit		Sucre consommé							
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72	86
A	2.631	Gluc.	0	351	751	1.267	1.502	1.816	2.082	2.216
	2.631	Lév.	0	512	816	1.157	1.373	1.673	1.895	2.038
B	2.631	Gluc.	0	426	876	1.375	1.776	1.958	2.220	2.515
	2.631	Lév.	0	721	981	1.306	1.525	1.827	2.068	2.420
C	2.631	Gluc.	0	431	882	1.416	1.774	2.183	2.434	2.631
	2.631	Lév.	0	821	1.130	1.524	1.690	1.997	2.296	2.593
D	2.631	Gluc.	0	111	436	830	1.415	1.896	2.133	2.375
	2.631	Lév.	0	951	1.261	1.451	1.623	1.949	2.299	2.443
E	2.631	Gluc.	0	68	471	1.021	1.379	1.907	2.204	2.415
	2.631	Lév.	0	1.125	1.364	1.519	1.797	2.063	2.309	2.529

Les conclusions qu'on peut tirer de l'examen des chiffres sont les mêmes que pour la levure Saaz ; l'allure de la fermentation est sensiblement analogue dans les deux cas, abstraction faite de la vitesse avec laquelle la fermentation s'accomplit dans les différents milieux.

Dans le milieu E, la levure Frohberg s'attaque, au début de la fermentation, d'une façon très énergique en lévulose, après 14 heures de fermentation elle a détruit 1 gr. 125 de lévulose et seulement 68 mgr de glucose.

La préférence de la levure pour le lévulose apparaît

encore dans le cas du milieu C: la levure Froberg, contrairement aux levures Logos et Pombé, consomme pendant la première moitié de la fermentation de préférence le lévulose. On voit d'après le tableau V, qu'après 38 heures de fermentation le lévulose disparaît plus vite que le glucose ; après 48 heures c'est le glucose qui l'emporte.

De même que dans la fermentation par la levure Saaz, la différence entre le glucose et le lévulose disparus est très marquée au début de la fermentation, 1 gr. 057 pour le milieu E, 161 pour le milieu A. Il est vrai que dans le dernier cas, la fermentation s'accomplit moins vite, mais si les poids des sucres disparus étaient identiques dans les deux milieux à la même époque, la différence entre le glucose et le lévulose disparus devrait être encore plus petite dans le cas du milieu A.

La différence entre le glucose et le lévulose consommés s'atténue dans tous les milieux, à mesure que la fermentation avance, néanmoins le phénomène de la fermentation élective, la consommation du sucre s'accomplissant de différentes manières, selon la nature du milieu, reste le même que dans le cas des autres levures étudiées.

EXPERIENCES VI ET VII

Levures de vin.

Levures de Champagne et de Chablis.

La levure de Champagne et la levure de Chablis, employées dans les deux expériences suivantes, font partie de la collection du Laboratoire des Fermentations de l'Institut Pasteur.

Les levures de Champagne et de Chablis ont été isolées sur les raisins des meilleurs crus de Champagne et de Bourgogne. Ce sont des levures très actives, la fermentation s'établit rapidement, la transformation du sucre peut être poussée jusqu'au bout, d'où résulte une richesse en alcool notable, fait qui accroît la stabilité du vin ; de plus, et c'est là un des faits les plus importants, elles communiquent aux liquides qu'elles font fermenter un bouquet spécial et caractéristique.

TABLEAU VI

Levure de Champagne.

Milieu			Sucre introduit			Sucre consommé				
		Heures.	0	14	24	38	48	62	72	86
A	2.631	Gluc.	0	66	381	861	1.224	1.720	1.940	2.229
	2.631	Lév.	0	245	461	711	1.038	1.381	1.699	2.093
B	2.631	Gluc.	0	89	471	851	1.412	1.844	2.181	2.392
	2.631	Lév.	0	331	591	706	1.213	1.538	1.939	2.287
C	2.631	Gluc.	0	21	989	1.314	1.696	2.181	2.406	2.515
	2.631	Lév.	0	427	823	1.198	1.397	1.929	2.276	2.399
D	2.631	Gluc.	0	44	629	921	1.596	2.115	2.177	2.436
	2.631	Lév.	0	516	858	1.011	1.686	2.165	2.205	2.451
E	2.631	Gluc.	0	21	944	1.102	1.716	2.071	2.193	2.386
	2.631	Lév.	0	693	1.238	1.336	1.891	2.286	2.392	2.504

TABLEAU VII

Levure de Chablis.

Milieu	Sucre introduit				Sucre consommé				
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	471	819	1.516	1.789	2.233	2.406
	2.631	Lév.	0	711	868	1.381	1.536	2.104	2.347
B	2.631	Gluc.	0	316	675	1.346	1.704	2.158	2.339
	2.631	Lév.	0	557	760	1.411	1.510	2.089	2.258
C	2.631	Gluc.	0	156	604	1.256	1.619	2.123	2.263
	2.631	Lév.	0	564	833	1.448	1.461	1.995	2.158
D	2.631	Gluc.	0	401	716	1.289	1.584	2.105	2.299
	2.631	Lév.	0	861	1.199	1.504	1.697	2.209	2.364
E	2.631	Gluc.	0	66	327	1.012	1.281	1.788	2.040
	2.631	Lév.	0	733	931	1.435	1.544	1.967	2.263

La fermentation du glucose et du lévulose par les levures de Champagne et de Chablis présente les mêmes phénomènes que ceux observés dans la fermentation des autres levures étudiées.

Le lévulose disparaît au début plus vite que le glucose dans les cinq milieux différents, phénomène qui persiste dans les milieux D et E ; dans les autres milieux la disparition du glucose prédomine à partir d'un certain moment de la fermentation.

Dans le cas de la levure de Champagne il est à remarquer que la préférence de la levure pour le lévulose est moins accentuée que chez les autres levures ; la marche des chiffres dans les milieux C et D confirme ce fait. Dans le milieu D, le lévulose est consommé, durant toute la durée de la fermentation, plus vite que le glucose, seulement les différences, à divers moments de la fermentation, entre le glucose et le lévulose consommés, sont moins grandes que dans le cas des autres levures et à la fin de la fermentation la différence est insignifiante. Dans le milieu C le glucose disparaît plus vite que le lévulose après 38 heures de fermentation, dans le cas de la levure de Chablis il se produit le contraire, c'est le lévulose qui est consommé plus vite, fait observé dans la fermentation des levures Saaz et Froberg.

EXPERIENCE VIII

Levures de distillerie.

Levure J.

Les levures de distillerie sont des levures poussant fort loin l'utilisation des matériaux fermentescibles d'un moût. Ce sont des levures très actives, produisant une forte atténuation, attaquant le plus complètement possible les produits de la saccharification de l'amidon.

La levure de distillerie J, faisant partie de la collection de l'Institut Pasteur, a été choisie parmi les levures de distillerie pour l'étude de la fermentation élective.

TABLEAU VIII

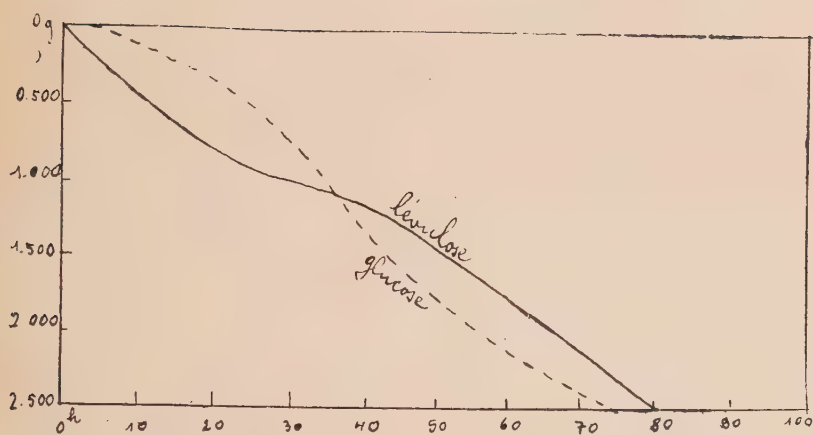
Levure J.

Milieu		Sucre introduit		Sucre consommé					
		Heures.	0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	246	471	1.461	1.731	2.136	2.441
	2.631	Lév.	0	662	778	1.226	1.466	1.953	2.361
B	2.631	Gluc.	0	156	321	1.004	1.507	1.953	2.281
	2.631	Lév.	0	451	686	881	1.190	1.473	1.973
C	2.631	Gluc.	0	21	316	1.085	1.527	1.878	2.286
	2.631	Lév.	0	582	814	1.270	1.414	1.594	2.044
D	2.631	Gluc.	0	0	181	911	1.214	1.609	2.246
	2.631	Lév.	0	732	1.051	1.231	1.474	1.697	2.355
E	2.631	Gluc.	0	0	86	901	1.226	1.529	2.211
	2.631	Lév.	0	791	946	1.391	1.568	1.792	2.367

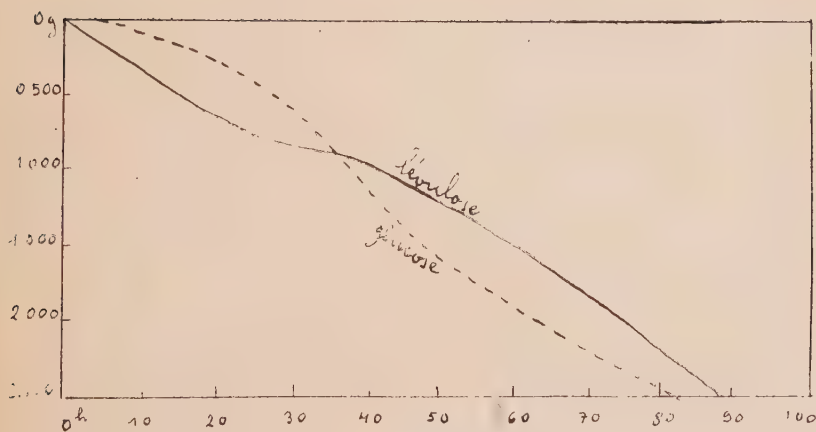
Les chiffres du tableau nous indiquent la marche de la fermentation du glucose et du lévulose par la levure J.

Les mêmes faits, observés dans la fermentation élective des levures étudiées antérieurement, se reproduisent dans la fermentation du glucose et du lévulose par la levure J. C'est encore le lévulose qui, à l'origine, est détruit plus vite, l'acidité du milieu intervenant dans les milieux A, B, C la levure commence, à partir d'un certain moment de la fermentation, à consommer le glucose plus vite que le lévulose. Ce changement dans le mode de destruction des sucres par la levure apparaît plus tard dans le milieu C, dans les milieux D et E la préférence de la levure pour le lévulose reste constante durant toute la durée de la fermentation.

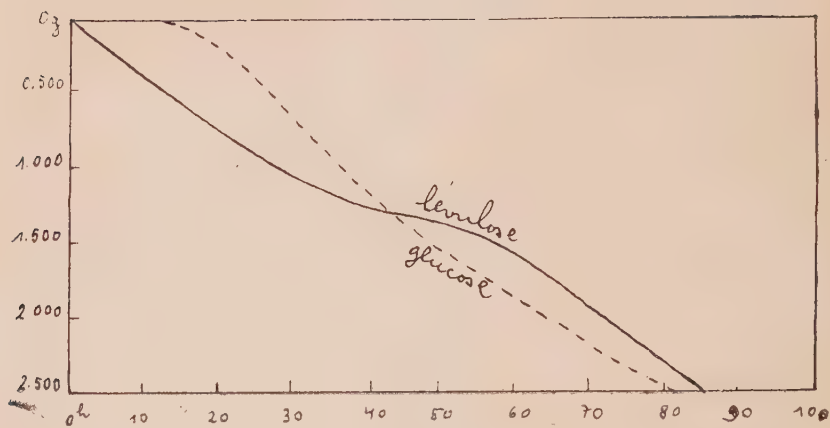
La destruction du glucose et du lévulose par la levure J est représentée par un graphique, les deux courbes du graphique correspondent au glucosé et au lévulose consommés.



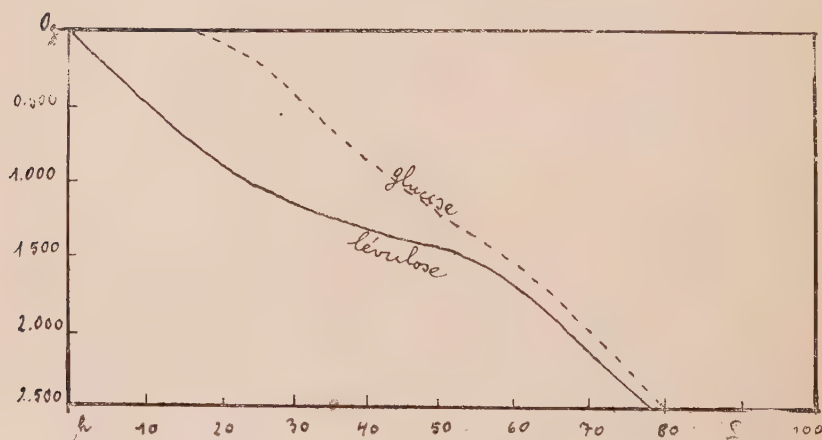
Milieu A



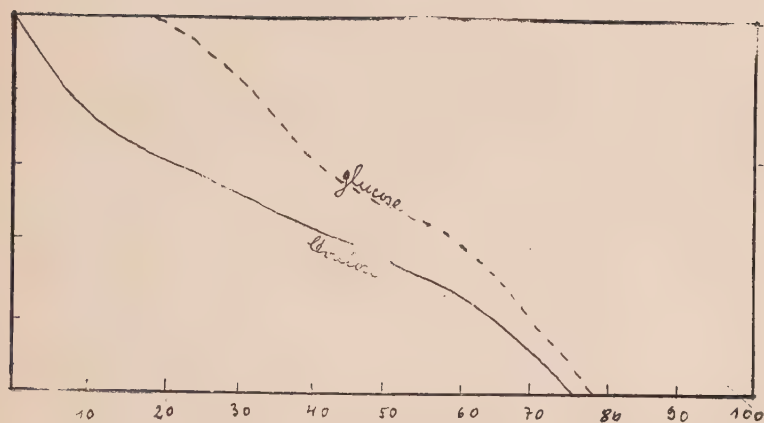
Milieu B



Milieu C



Milieu D



Milieu E

La marche de la fermentation d'un mélange équimoléculaire de glucose et de lévulose par la levure de Sauternes est reproduite par un graphique, les deux courbes du graphique représentent la disparition du glucose et du lévulose. On y voit les deux courbes se séparer dès leur point de départ, s'éloigner jusqu'à une valeur maxima, pour aboutir toutes deux à l'ordonnée, point final de la fermentation.

Le processus est différent pour la levure J. Les graphiques des milieux D et E, montrent des courbes dont l'allure présente une ressemblance avec celles de la levure de Sauternes. Les deux courbes partent du même point, s'éloignent, atteignent un maximum et se confondent finalement sur l'ordonnée.

Dans les milieux A, B, C, les deux courbes du gra-

phique présentent un point d'intersection, point qui correspond au changement dans la manière dont la levure détruit les sucres. La destruction du lévulose prédomine au début, elle passe ensuite au second plan, et c'est le glucose qui disparaît plus vite. Le point d'intersection n'apparaît pas dans les trois milieux différents à la même époque de la fermentation : il se présente plus tard dans le milieu C, la préférence que la levure manifeste pour le lévulose, persistant davantage dans ce dernier cas.

La différence entre le glucose et le lévulose consommés passe par un maximum. Dans les milieux D et E ce maximum est placé, à l'encontre de la levure de Sauternes, tout au début de la fermentation, à mesure que la fermentation avance, les deux courbes se rapprochent. Les milieux A, B, C, présentent deux maxima, avant et après le point d'intersection, le premier placé à l'origine, le second vers le milieu de la fermentation. Dans la première phase de la fermentation c'est le lévulose qui prédomine, dans la seconde c'est le glucose.

Les phénomènes observés dans la fermentation d'un mélange équimoléculaire de glucose et de lévulose, par la levure J, se retrouvent dans l'étude de toutes les levures examinées antérieurement, exception faite pour la levure de Sauternes. En prenant la fermentation du glucose et du lévulose par la levure J. comme type de fermentation on peut considérer les graphiques, représentant la destruction des sucres par la levure, comme applicables à toutes les levures étudiées. Il est à remarquer que certaines levures présentent une préférence

remarquable pour le lévulose, telles que les levures de Saaz et de Froberg, qui détruisent des poids considérables de lévulose au début de la fermentation, aussi chez ces levures le point d'intersection dans le milieu C apparaît-il plus tard. Abstraction faite de ces faits, l'allure générale des deux courbes chez toutes les levures reste la même que dans le cas de la levure J.

DEUXIEME CHAPITRE

Les milieux A et B représentent les deux milieux acides. Dans une première série d'expériences l'acidité du milieu A a été obtenue en acidifiant le milieu par un acide minéral. L'acide chlorhydrique a été choisi comme étant l'acide le plus dissociable, l'acidité du milieu B était l'acidité naturelle d'une infusion d'eau de touraillons. Dans une seconde série d'expériences l'acidité des milieux A et B a été obtenue en acidifiant les deux milieux par un acide organique, on a employé l'acide tartrique, 5 gr. 0/00 dans le milieu A, 3 gr. 0/00 dans le milieu B.

La préparation des différents milieux reste la même, l'acide tartrique étant introduit dans l'infusion de touraillons après coagulation des matières protéiques à l'autoclave. Le mode opératoire reste identique, pas de changement non plus dans le mode de défécation.

Les expériences ont porté sur deux levures, la levure J. et la levure Pombé, les résultats de ces deux expériences sont consignés dans les deux tableaux suivants :

TABLEAU IX

Levure J.

Milieu	Sucre introduit				Sucre consommé				
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	321	605	1.514	1.986	2.294	2.406
	2.631	Lév.	0	561	716	1.239	1.725	1.933	2.308
B	2.631	Gluc.	0	502	704	1.467	2.046	2.339	2.474
	2.631	Lév.	0	735	767	1.248	1.789	2.098	2.376
C	2.631	Gluc.	0	394	833	1.531	2.283	2.361	2.581
	2.631	Lév.	0	695	1.004	1.281	1.948	2.126	2.516
D	2.631	Gluc.	0	561	901	1.786	2.211	2.384	2.471
	2.631	Lév.	0	1.095	1.267	1.894	2.321	2.478	traces
E	2.631	Gluc.	0	359	746	1.655	1.951	2.271	2.394
	2.631	Lév.	0	988	1.057	1.882	2.145	2.503	traces

TABLEAU X

Levure Pombé.

Milieu	Sucre introduit			Sucre consommé				
	Heures.	0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	169	584	1.284	1.641	1.909
	2.631	Lév.	0	348	728	1.049	1.296	1.593
B	2.631	Gluc.	0	285	709	1.538	1.866	2.081
	2.631	Lév.	0	496	728	1.346	1.456	1.826
C	2.631	Gluc.	0	339	815	1.519	1.821	2.029
	2.631	Lév.	0	601	848	1.370	1.535	1.821
D	2.631	Gluc.	0	251	634	1.415	1.691	1.953
	2.631	Lév.	0	667	1.028	1.611	1.876	2.049
E	2.631	Gluc.	0	255	709	1.368	1.670	1.987
	2.631	Lév.	0	778	1.089	1.633	1.871	2.150

Les conclusions que l'on peut tirer des chiffres des deux tableaux, donnant la marche de la fermentation d'un mélange equimoléculaire de glucose et de lévulose par les levures J. et Pombé restent les mêmes que celles des expériences antérieures. L'acidité des milieux A et B obtenue par addition d'acide tartrique n'apporte aucun changement dans la manière dont les levures détruisent les sucres. Les deux levures se comportent dans un milieu acidifié par l'acide tartrique exactement de la même façon que dans les milieux acidifiés par l'acide chlorhydrique. Le lévulose disparaît à l'origine plus vite que le glucose, à partir d'un certain moment de la fermentation il y a interversion et c'est le glucose qui est consommé de préférence. Dans les milieux C. D. E les phénomènes observés précédemment se reproduisent.

TROISIEME CHAPITRE

Les milieux de culture employés dans les expériences précédentes contenaient le saccharose sous forme de sucre interverti ; la levure se trouvait donc au moment de l'ensemencement en présence d'un mélange de glucose et de lévulose. Dans la dernière expérience de ce travail le sucre a été introduit dans les milieux de culture sous forme de saccharose, le poids de sucre introduit était de 10 o/o, l'acide employé était l'acide chlorhydrique. La levure Pombé a été choisie pour étudier la fermentation du saccharose dans les cinq milieux différents.

La préparation des milieux de culture exige certaines précautions. Dans le chapitre traitant des méthodes de travail employées dans cette étude, le mode de préparation des différents milieux a été indiqué. Les milieux préparés étaient stérilisés à l'autoclave avant qu'on ne procédât à l'ensemencement. Ce mode de préparation doit être abandonné si l'on veut éviter une hydrolyse partielle du saccharose. Le saccharose est dissous dans l'eau distillée, la solution est stérilisée à froid par filtration à travers la bougie Chamberland. Les différents milieux de culture sont préparés à part et stérilisés à l'autoclave avant l'introduction du saccharose. En opérant de cette manière on obtient des milieux de culture contenant tout le saccharose sous forme non-hydrolysée.

Les milieux sont ensemencés de la même manière

que dans les expériences précédentes. Pour l'analyse on fait deux prélèvements par jour, matin et soir. Les échantillons du matin sont dosés le jour même, ceux du soir le lendemain, la fermentation est arrêtée par la lessive de soude, on évite le chauffage qui provoquerait l'hydrolyse.

Les échantillons prélevés à divers moments de la fermentation ont été soumis à une double analyse : dans un même échantillon on a dosé, d'une part, le glucose et le lévulose présents dans le milieu au moment du prélèvement, d'autre part, on a hydrolysé le saccharose restant et dosé le glucose et le lévulose dans une seconde analyse.

La marche de la fermentation est représentée par les chiffres des deux tableaux suivants, le sucre est exprimé en sucre restant.

TABLEAU XI

Milieu	Sucre introduit			Sucre restant (après hydrolyse)					
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	2.350	1.912	1.080	0.310	0.150	traces
	2.631	Lév.	0	2.270	1.905	1.170	0.385	0.225	
B	2.631	Gluc.	0	2.430	1.910	1.260	0.460	0.295	0.115
	2.631	Lév.	0	2.300	1.900	1.340	0.615	0.445	0.210
C	2.631	Gluc.	0	2.520	1.995	1.265	0.835	0.380	0.150
	2.631	Lév.	0	2.310	1.975	1.340	1.010	0.800	0.415
D	2.631	Gluc.	0	2.592	2.520	2.160	1.590	0.750	0.382
	2.631	Lév.	0	2.301	2.197	1.890	1.570	0.840	0.470
E	2.631	Gluc.	0	2.610	2.475	2.385	2.250	2.107	1.926
	2.631	Lév.	0	2.312	2.325	2.280	2.280	2.032	1.853

TABLEAU XII

Milieu Sucre introduit			Sucre restant (avant hydrolyse)						
	Heures.		0	14	24	38	48	62	72
A	2.631	Gluc.	0	0.175	0.198	0.405	0.205	0.048	traces
	2.631	Lév.	0	0.136	0.117	0.440	0.280	0.120	
B	2.631	Gluc.	0	0.190	0.234	0.400	0.324	0.260	0.105
	2.631	Lév.	0	0.085	0.126	0.421	0.491	0.404	0.195
C	2.631	Gluc.	0	0.086	0.225	0.576	0.504	0.245	0.135
	2.631	Lév.	0	0.054	0.160	0.580	0.542	0.480	0.380
D	2.631	Gluc.	0	0.080	0.195	0.234	0.376	0.288	0.160
	2.631	Lév.	0	0.035	0.120	0.266	0.454	0.380	0.300
E	2.631	Gluc.	0	traces	0.085	0.099	0.102	0.120	0.163
	2.631	Lév.	0		0.040	0.036	0.060	0.065	0.128

La saccharose n'est pas un sucre directement fermentescible ; pour l'utiliser comme aliment, la levure doit le dédoubler, ce déboulement est accompli par la sucrase. L'activité de la sucrase intervient donc dans cette expérience. Dans les expériences précédentes la sucrase n'exerçait aucune influence, le saccharose étant introduit dans le milieu de culture sous forme de sucre interverti.

Les chiffres trouvés à l'analyse après hydrolyse montrent que le lévulose, à l'origine de la fermentation, disparaît plus vite que le glucose et cela dans tous les milieux. Le même phénomène que dans les expériences précédentes se répète, seulement la différence entre le glucose et le lévulose consommés est plus petite ; de plus la destruction du glucose par la levure prédomine plus tôt. Dans le milieu D, contrairement à ce qui se passe dans les autres expériences, le glucose disparaît plus vite que le lévulose à partir d'un certain moment de la fermentation. Les chiffres du tableau indiquent, dans le milieu E, une préférence de la levure pour le lévulose, mais la fermentation est ralentie dans ce dernier cas, il est probable qu'elle s'accomplit de la même façon que dans le milieu D.

Les résultats des analyses avant hydrolyse conduisent aux mêmes constatations.

L'exposé de cette dernière expérience ne permet pas de tirer une conclusion générale sur l'influence de la réaction du milieu sur la fermentation du saccharose dans des milieux de nature différente les recherches devant être étendues à l'étude des levures autres que la levure de Pombé.

CONCLUSIONS GENERALES

Les notions généralement admises jusqu'ici, telles qu'elles résultent des recherches de divers expérimentateurs, ont conduit à diviser les levures en deux classes distinctes : l'une qui comprend la plupart des levures connues, auxquelles on a attribué la propriété de faire fermenter le glucose plus vite que le lévulose ; l'autre qui renferme quelques levures exceptionnelles, douées de la propriété inverse.

Les résultats des expériences de ce travail prouvent tout d'abord, que ces notions ne correspondent pas exactement aux faits. Dans les premiers stades de la fermentation, toutes les levures sont des *levures de Sauternes* : elles s'attaquent au lévulose plus vite qu'au glucose. Chez la plupart d'entre elles, le phénomène d'élection se renverse à un stade plus ou moins éloigné du début de la fermentation, tandis que chez les levures de Sauternes, il persiste jusqu'à la fin.

Toutefois, avec toutes les autres levures étudiées, on peut empêcher ce renversement en modifiant la réaction du milieu. Dans un milieu alcalin, la prédominance

de la disparition du lévulose persiste tout comme si on avait affaire à une levure de Sauternes.

Dans les milieux acides, la nature de l'acide n'apporte aucun changement. La fermentation s'accomplit de la même manière que le milieu soit acidifié par un acide minéral ou par un acide organique.

BIBLIOGRAPHIE

- BAKER ET HULTON. — *Biochem. Journ.*, t. XIV, p. 754 ; 1920.
- BERTRAND ET THOMAS. — *Guide pour les Manipulations de Chimie Biologie.*
- BOURQUELOT. — *Ann. des Chim. et de Phys.*, 6^e S., t. IX, 1886.
- BORNTAEGER. — *Die Zuckerindustrie*, t. XII, p. 1092 ; 1897.
- COLLIN ET LIÉVIN. — *Bull. Soc. Chimique*, t. XLVII, 403 ; 1918.
- DUBRUNFAUT. — *Ann. de Chim. et de Phys.*, 3^e S., t. XXI, p. 169; 1847 et t. XXII, p. 901; 1856.
- DUCLAUX. — *Microbiologie*, t. III.
- FERNBACH ET HUBERT. — *Comptes rendus*, t. CXXX. p. 1783 ; 1900.
- FERNBACH. — *Ann. de la Brasserie*, 1923, Nr. 2.
- GAYON ET DUBOURG. — *Comptes Rendus*, avril 1890.
- GUILLIERMOND. — *Les Levures.*
- HIEPE. — *Journ. of the fed. institutes of Brewing*, 1895.
- JUDD. — *Biochem. Journal*, t. XIV. p. 255 ; 1920.
- KAYSER. — *Les Levures.*
- KJELDAHL. — *Meddelelser fra Carlsberger Laboratoriet*, 1881.
- LINDNER. — *Wochenschr. f. Brauerei*, 1893.
- LINDNER. — *Mikroskop. Betriebskontrolle in den Gährungsgewerben, Berlin.*
P. Parey, 1895.
- LINDNER. — *Centralblatt f. Bakter.*, t. II, 1896.
- LUERS. — *Zeitschr. f. techn. Biologie*, nov. 1919, p. 180
- O'SULLIVAN C. ET J. — *Fr. of. the Chem. Soc.*, 1890 et 1892.
- PASTEUR. — *Etudes sur la Bière.*
- PAUL, TH. — *Zeitschr. f. Elektrochem.*, 1919, fasc. 5-6.
- SÖRENSEN. — *C. R. du Lab. de Carlsberg*, t. X, p. 170 ; 1911.
- SOUBEIRAN. — *Journ. de Phys. et de Chim.*, 3^e S., t. IV, p. 347.
- VAN LAER ET DENAMUR. — *Moniteur Scientifique*, 1895, p. 49.
- WILLSTATER ET SCHUEDEL. — *Berichte d. deutsch. chem. Ges.*, 51, 780.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Méthodes biologiques de mesure de la pression osmotique.

Vu et Approuvé :
Paris, le 3 mai 1924.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
M. MOLLIARD.

Vu et Permis d'Imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
P. APPELL.

Imprimerie A. & F. DEBEAUME, 35, rue Tournefort, Paris (Ve)
